

# Jagung Transgenik dan Perkembangan Penelitian di Indonesia

**Sustiprijatno**

*Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Bogor*

## PENDAHULUAN

Jagung dibudidayakan secara komersial di lebih dari 100 negara dengan produksi sekitar 705 juta metrik ton. Pada tahun 2004 produsen jagung terbesar di dunia berturut-turut adalah Amerika Serikat, Cina, Brasil, Meksiko, Perancis, dan India (Agbios GM Data Base 2007).

Pada umumnya jagung dibudidayakan untuk digunakan sebagai pangan, pakan, bahan baku industri farmasi, makanan ringan, susu jagung, minyak jagung, dan sebagainya. Di negara maju, jagung banyak digunakan untuk pati sebagai bahan pemanis, sirop, dan produk fermentasi, termasuk alkohol. Di Amerika, jagung banyak digunakan untuk bahan baku pakan (Agbios GM Data Base 2007).

Di Indonesia jagung merupakan bahan pangan kedua setelah padi. Selain itu, jagung juga digunakan sebagai bahan baku industri pakan dan industri lainnya. Hal ini mengakibatkan kebutuhan jagung di dalam negeri terus meningkat dari tahun ke tahun. Untuk memenuhi kebutuhan jagung harus dilakukan impor, terutama dari Amerika.

Diperkirakan kebutuhan jagung dalam negeri sampai tahun 2010 akan terus meningkat sehubungan dengan bertambahnya jumlah penduduk dan berkembangnya industri pangan dan pakan. Oleh karena itu, produksi jagung dalam negeri perlu ditingkatkan sehingga volume impor dapat dikurangi dan bahkan ditiadakan.

Ketergantungan akan jagung impor berdampak buruk terhadap keberlanjutan penyediaan jagung di dalam negeri mengingat komoditas ini di negara produsen utama telah digunakan untuk berbagai keperluan, termasuk untuk bahan baku bioenergi. Di Amerika Serikat, misalnya, telah dicanangkan penggunaan jagung sebagai sumber bioenergi. Pada saatnya nanti akan terjadi persaingan penggunaan jagung untuk pangan, pakan, bahan baku industri, dan bioenergi.

Apabila kebutuhan jagung nasional masih bergantung pada impor dikhawatirkan akan mematikan industri pangan dan pakan berbasis jagung

karena berkurangnya pasokan bahan baku. Hal ini mengancam ketahanan pangan dan keberlanjutan usaha peternakan.

Upaya peningkatan produksi jagung dapat dilakukan melalui berbagai cara, antara lain melalui perbaikan genetik tanaman. Perbaikan genetik jagung bertujuan untuk mengatasi kendala pertumbuhan tanaman, terutama cekaman lingkungan biotik dan abiotik.

Perbaikan genetik jagung dapat dilakukan secara konvensional maupun melalui rekayasa genetik (*genetic engineering*). Dengan berkembangnya bioteknologi, perbaikan genetik jagung melalui rekayasa genetik akan menjadi andalan dalam pemecahan masalah per Jagung di masa mendatang. Seperti diketahui, pemuliaan secara konvensional mempunyai keterbatasan dalam mendapatkan sifat unggul dari tanaman. Dalam rekayasa genetik jagung, sifat unggul tidak hanya didapatkan dari tanaman jagung itu sendiri, tetapi juga dari spesies lain sehingga dapat dihasilkan tanaman transgenik. Jagung Bt merupakan tanaman transgenik yang mempunyai ketahanan terhadap hama, di mana sifat ketahanan tersebut diperoleh dari bakteri *Bacillus thuringiensis* (Herman 1997).

Tulisan ini membahas aspek yang berkaitan dengan perakitan jagung transgenik dan prospek pengembangannya.

## PERAKITAN JAGUNG TRANSGENIK

Kendala pemanfaatan sumber genetik dalam pemuliaan konvensional dapat diatasi melalui rekayasa genetik yang bertujuan untuk mendapatkan tanaman yang mempunyai daya hasil tinggi dan tahan terhadap cekaman biotik dan abiotik. Penggunaan teknologi rekayasa genetik pada tanaman jagung berkembang pesat setelah pertama kali Gordonn-Kamm *et al.* (1990) berhasil mendapatkan tanaman jagung transgenik yang fertil. Hal ini merupakan terobosan dalam pengembangan dan pemanfaatan plasma nutfah dalam penelitian di bidang biologi tanaman jagung. Teknologi rekayasa genetik merupakan teknologi transfer gen dari satu spesies ke spesies lain, di mana gen interes berupa suatu fragmen DNA (donor gen) ditransformasikan ke dalam sel atau tanaman inang (akspetor gen) untuk menghasilkan tanaman transgenik yang mempunyai sifat baru. Terdapat dua metode dalam pemanfaatan teknologi transfer gen, yaitu secara langsung dan tidak langsung. Metode transfer gen secara langsung di antaranya adalah:

### a. Elektroforasi (*electroporation*)

Metode ini menggunakan protoplas sebagai inang. Dengan bantuan polietilen glikol (PEG), DNA interes terpresipitasi dengan mudah dan

kontak dengan protoplas. Setelah dilakukan elektroforasi dengan voltase yang tinggi permeabilitas protoplas menjadi lebih tinggi, sehingga DNA melakukan penetrasi ke dalam protoplas. Metode elektroforasi telah diaplikasikan pada protoplas jagung (Fromm *et al.* 1985) dan berhasil mendapatkan tanaman jagung transgenik (Rhodes *et al.* 1988) tetapi tidak fertil.

- b. Penembakan partikel (*Particle bombardment*), yaitu teknologi yang menggunakan metode penembakan partikel atau *gen gun*. DNA yang melapisi partikel ditembakkan secara langsung ke dalam sel atau jaringan tanaman (Klein *et al.* 1988). Partikel yang mengandung DNA tersebut menembus dinding sel dan membran, kemudian DNA berdifusi dan menyebar di dalam sel secara independen. Metode transformasi dengan penembakan partikel pertama kali diaplikasikan pada jagung oleh Gordon-Kamm *et al.* (1990) dan berhasil mendapatkan jagung transgenik yang fertil.
- c. Karbid silikon (*silicon carbide*), yaitu teknologi transfer gen di mana suspensi sel tanaman inang dicampur dengan serat karbid silikon yang mengandung DNA plasmid dari gen interes, kemudian dimasukkan ke dalam tabung mikro dan dilakukan pemutaran dengan vortex. Serat silikon karbida berfungsi sebagai jarum injeksi mikro (*micro injection*) untuk memudahkan perpindahan DNA ke dalam sel tanaman. Metode ini telah digunakan dan menghasilkan tanaman jagung transgenik yang fertil (Kaepler *et al.* 1990)

Transfer gen secara tidak langsung, yaitu transfer gen yang dilakukan melalui bantuan bakteri *Agrobacterium* (tidak langsung ditransfer ke sel atau tanaman). Gen yang berupa fragmen DNA disisipkan pada plasmid Ti (*tumor inducing*) dari bakteri *Agrobacterium*. Melalui bakteri tersebut Ti yang mengandung fragmen DNA diinfeksi ke dalam inti sel dan berintegrasi dalam genom tanaman. Metode ini menghasilkan jagung transgenik yang fertil dan efisien (Ishida *et al.* 1996, Hamilton *et al.* 1996, Zhao *et al.* 1998).

Rekayasa genetik melalui transformasi *Agrobacterium tumefaciens* (*A. tumefaciens*) telah banyak dilakukan pada tanaman monokotiledon, seperti padi dan jagung, sehingga digunakan sebagai teknologi standar (rutin) untuk melakukan modifikasi genetik terhadap spesies yang beragam (Komari and Kubo 1999, Ishida *et al.* 1996).

Keunggulan penggunaan transformasi melalui *A. tumefaciens* adalah:

- a. Mempunyai frekuensi transformasi yang tinggi
- b. Dapat terintegrasinya gen asing ke dalam genom inang
- c. Mempunyai jumlah *copy number* yang rendah, sehingga memudahkan untuk membedakan sifat ekspresi tanaman transgenik itu sendiri.

Studi tentang infeksi *A. tumefaciens* pada tanaman jagung pertama kali dilaporkan oleh Grimsley *et al.* (1988) dan Gould *et al.* (1991). Peneliti yang melaporkan pertama kali bahwa transformasi melalui *A. tumefaciens* dapat diterapkan pada spesies sereal adalah Chan *et al.* (1992) dan Hiei *et al.* (1994), dengan menggunakan embrio muda sebagai eksplan.

Ishida *et al.* (1996) telah berhasil mendapatkan tanaman jagung transgenik yang fertil. Tanaman jagung yang digunakan sebagai eksplan adalah genotipe A188 dan hasil persilangan A188 dengan genotipe lainnya. Dengan tingkat frekuensi yang tinggi, yaitu antara 5% dan 30%, hampir semua tanaman jagung transgenik yang didapatkan mempunyai morfologi yang normal dan lebih dari 70% merupakan tanaman fertil. Setelah dilakukan analisis secara molekuler dan genetik, turunan dari tanaman jagung transgenik mempunyai stabilitas dalam integrasi dan ekspresi. *Copy number* dari gen tertransfer yang terintegrasi adalah satu dan dua kopi, hanya sedikit yang mengalami *rearrangement*.

Lima jenis *A. tumefaciens* yang telah dikarakterisasi dengan latar belakang kromosom yang berbeda dan kandungan plasmid Ti-nya dapat digunakan karena membawa vektor dengan konstruksi kimerik sistem biner yang diatur oleh promotor *CaMV35S*. Kelima strain tersebut adalah C58c1, Agt121, EHA101, EHA105, HA105 and LBA4404 (Chan *et al.* 1992, Smith and Hood 1995, Hiei *et al.* 1994).

Protokol yang dapat dilakukan untuk pengulangan transformasi jagung melalui *A. tumefaciens* adalah menggunakan super vektor biner, di mana *A. tumefaciens* dapat membawa ekstra kopi bagi *virB*, *virC*, dan *virG* (Komari 1990) untuk menginfeksi embrio muda, baik dari *inbred line* (Ishida *et al.* 1996, Negroto *et al.* 2000) maupun *hybrid line* (Zhao *et al.* 1998).

Penggunaan vektor biner yang standar juga dapat menghasilkan transformasi yang stabil, walaupun mempunyai frekuensi transformasi yang rendah (Gould *et al.* 1991). Frame *et al.* (2002) telah berhasil mendapatkan metode transformasi jagung yang stabil dengan frekuensi transformasi yang tinggi, yaitu 5,5%, di mana untuk meningkatkan efisiensi tersebut digunakan penambahan L-Cys pada medium kokultivasi.

Keberhasilan metode transformasi melalui *A. tumefaciens* memberikan peluang bagi perbaikan genetik tanaman jagung dengan efisiensi yang tinggi. Efisiensi transformasi yang tinggi diperlukan untuk dapat menghasilkan tanaman transgenik yang mempunyai ekspresi yang kuat dari sifat gen yang diinginkan.

## JAGUNG BT

Salah satu hambatan yang paling besar dalam upaya peningkatan produksi jagung adalah serangan organisme pengganggu tanaman (OPT), seperti hama dan penyakit tanaman. Serangan OPT pada tanaman jagung selain menurunkan produksi juga mengurangi pendapatan petani dan adanya residu pestisida dalam jumlah besar yang menyebabkan polusi lingkungan.

European corn borer (ECB), *Ostrinia nubilalis*, merupakan hama jagung di Amerika dan Kanada yang dapat merugikan 1 milyar dolar Amerika per tahun. Hama ECB dapat dieliminasi oleh pestisida kimia, tetapi hanya dapat diaplikasikan pada areal yang terbatas (kurang dari 20%), karena aplikasi pestisida sulit dilakukan dan diperlukan aplikasi lain dalam mengontrol ECB.

Tersedianya bioaktif dari kristal protein yang dikode oleh gen *Bt*, memungkinkan modifikasi genetik tanaman jagung yang disisipi dengan gen *Bt* untuk menghasilkan jagung transgenik *Bt* (*Bt corn*). *Bt* protein yang dihasilkan oleh gen *Bt* dapat meracuni hama yang menyerang tanaman jagung. Setelah dimakan oleh *corn borer*, *Bt* protein dipecah oleh suatu enzim pemecah dalam pencernaan yang bersifat alkalin dari larva serangga dan menghasilkan protein pendek yang mengikat dinding pencernaan. Pengikatan dapat menyebabkan kerusakan membran sel sehingga larva berhenti beraktivitas (Syngenta Seeds Communication 2003).

Gen *Bt* disolasi dari bakteri tanah *Bacillus thuringiensis* yang telah digunakan petani di negara maju sebagai pestisida hayati sejak puluhan tahun yang lalu (Herman 2002). *B. thuringiensis* menghasilkan protein kristal *Bt*, atau *Crystal protein (Cry)* yang merupakan protein endotoksin yang bersifat racun bagi serangga (insektisidal) (Held *et al.* 1982, Macintosh *et al.* 1990). Namun protein endotoksin yang dihasilkan oleh *B. thuringiensis* tidak melakukan pengikatan pada permukaan pencernaan sel mamalia, karena itu hewan ternak dan manusia tidak tahan terhadap protein tersebut (Agbios GM Data Base 2007).

Terdapat delapan kelompok gen *Bt* berdasarkan sifat virulensinya (Herman 2002), tetapi yang sudah banyak ditransformasikan ke dalam tanaman jagung adalah yang menghasilkan jenis *Bt* endotoksin dari gen *Cry1Ab*. Protein *Cry* dari gen ini hanya menghasilkan satu jenis yang mengikat pada lokasi spesifik dari serangga target (Agbios GM Data Base 2007).

Produksi jagung *Bt* pada saat ini didominasi oleh Amerika, di mana areal pertanamannya pada tahun 2000 telah mencapai 92% dari total areal pertanaman jagung. Keuntungan diperoleh dari pertanaman jagung *Bt* di Amerika mencapai 141 juta dolar (59%) dari total keuntungan sebesar 240 juta dolar Amerika (Herman 2002).

Pertanaman jagung Bt mempunyai dampak positif terhadap lingkungan karena dapat menekan penggunaan pestisida. Pengurangan pestisida berarti menurunkan biaya produksi. Di negara bagian Iowa, Amerika Serikat, yang mempunyai 80% areal jagung Bt terjadi pengurangan penggunaan pestisida hingga 600 ton (Teng 2001).

Dampak positif lain dari pertanaman jagung Bt adalah ketahanan tanaman terhadap jamur toksin dari *Fusarium* penyebab busuk tongkol, dibandingkan dengan jagung non-Bt yang mengalami kerusakan berat. Berdasarkan hasil analisis mikotoksin, jagung Bt mempunyai kandungan fumonisin 1,5 ppm, sedangkan jagung non-Bt mempunyai kadar yang lebih tinggi, mencapai 14,5 ppm (Fuller 1999).

Penelitian menunjukkan bahwa penanaman jagung Bt tidak berpengaruh terhadap serangga berguna seperti laba-laba, *coccinellid*, *chrysomelid*, *nabid*, dan aman terhadap burung puyuh *Northern Bobwhite* (McLean and MacKenzie 2001).

## JAGUNG TRANSGENIK KOMERSIAL

Pada umumnya jagung transgenik komersial diproduksi oleh perusahaan swasta, terutama dari Amerika. Berbagai jenis jagung transgenik dengan perlakuan, metode transformasi, tujuan penggunaan, perusahaan pembuatnya, dan persetujuan terhadap peraturan yang berlaku disajikan pada Tabel 1-3.

Tabel 1. Jagung transgenik YN-IR604-5 (MIR604).

Organisme inang	<i>Zea mays</i> L. (maize)				
Perlakuan	Tahan terhadap <i>corn root worm</i> (Coleopteran, <i>Diabrotica</i> sp.)				
Metode transformasi	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>				
Tujuan penggunaan	Untuk konsumsi pangan ( <i>wet mill or dry mill or seed oil</i> ), tepung dan disimpan untuk pakan ternak.				
Perusahaan pembuat	Syngenta Seeds, Inc.				
Persetujuan terhadap peraturan yang berlaku.					
Negara	Lingkungan	Pangan dan/ atau pakan	Pangan	Pakan	Pemasaran
Australia			2006		
Amerika Serikat	2007	2007			

Tabel 2. Jagung transgenik. MON-00810-6 (MON810).

Organisme inang	<i>Zea mays</i> L. (maize) Yieldgard®				
Perlakuan	Tahan terhadap European corn borer ( <i>Ostrinia nubilalis</i> ).				
Metode transformasi	Microparticle bombardment dari sel atau jaringan tanaman				
Tujuan penggunaan	Untuk konsumsi pangan ( <i>wet mill or dry mill or seed oil</i> ), tepung dan disimpan untuk pakan ternak				
Perusahaan	Monsanto Company				
Persetujuan terhadap peraturan yang berlaku.					
Negara	Lingkungan	Pangan dan/ atau pakan	Pangan	Pakan	Pemasaran
Argentina	1998		1998	1998	
Australia			2000		
Kanada	1997		1997	1997	
Cina		2004			
Uni Eropa	1998	1998			1998
Jepang	1996		1997	1997	
Korea			2002	2004	
Meksiko		2002			
Phillipina	2002		2002	2002	
Afrika Selatan	1997		1997	1997	
Swiss			2000	2000	
Taiwan			2002		
Amerika Serikat	1995	1996			
Uruguay	2003	2003			

Tabel 3. Jagung transgenik EN-00038-3 (LY038).

Organisme inang	<i>Zea mays</i> L. (maize)				
Perlakuan	Meningkatkan kandungan lysine				
Metode transformasi	Microparticle bombardment				
Tujuan penggunaan	Untuk pakan ternak.				
Perusahaan	Monsanto Company				
Persetujuan terhadap peraturan yang berlaku.					
Negara	Lingkungan	Pangan dan/ atau pakan	Pangan	Pakan	Pemasaran
Kanada	2006		2006	2006	
Jepang			2007		
Phillipina		2006			
Amerika Serikat	2006	2005			

## PERKEMBANGAN PENELITIAN JAGUNG TRANSGENIK DI INDONESIA

Sampai saat ini belum banyak dilaporkan perkembangan jagung transgenik di Indonesia. Namun Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian (BB Biogen) telah melakukan penelitian terhadap jagung Bt yang tahan terhadap hama (Tabel 4).

Sejak 2006 BB Biogen melakukan penelitian transformasi gen transporter nitrit (*CsNitr-L*) yang bertujuan meningkatkan efisiensi penggunaan N. Pemakaian pupuk N pada jagung selama ini mengalami banyak kehilangan akibat adanya nitrifikasi, denitrifikasi, penguapan, dan pencucian.

Pada dasarnya pupuk N yang diserap tanaman hanya sekitar 50%, sehingga terjadi inefisiensi. Jika gen *CsNitr1-L* diintroduksi pada tanaman jagung, diharapkan akan meningkatkan efisiensi pemupukan N dan adanya tambahan hara N pada jagung akan meningkatkan hasil.

Mekanisme efisiensi N adalah berdasarkan alur biokimia dari asimilasi N-nitrat, di mana sumber nitrat yang sedikit diserap oleh tanaman jagung nontransgenik akan dapat dengan mudah digunakan oleh tanaman transgenik yang mengandung gen *CsNitr1-L*. Sumber nitrat yang berlebihan bagi tanaman jagung dapat menyebabkan keracunan karena dalam asimilasinya menghasilkan senyawa nitrit yang beracun. Hal ini mengakibatkan kapasitas penyerapan nitrat oleh tanaman jagung menjadi rendah untuk melakukan keseimbangan alamiah guna menghindari keracunan nitrit dalam sel plastid.

Gen *CsNitr1-L* mampu memindahkan dengan cepat nitrit dari plastid menuju sel kloroplas untuk diubah menjadi sumber N amonium yang tersedia bagi pembentukan asam amino. Dengan semakin banyaknya nitrit yang ditranspor ke kloroplas, maka pembentukan asam amino sebagai bahan utama pembentukan protein akan semakin banyak dan tanaman tumbuh lebih produktif.

Tabel 4. Status kegiatan jagung transgenik di BB Biogen.

Jenis kegiatan	Sifat	Gen interes	Status
Transformasi melalui penembakan partikel	Tahan terhadap penggerek batang	<i>Protein inhibitor II (PinII)</i>	-
Fasilitas uji terbatas Lapangan uji terbatas Uji multilokasi	Tahan <i>Asian Corn borer</i>	<i>Bt</i>	Aman hayati

Sumber: Herman (2002).



Perakitan tanaman transgenik dengan gen *CsNitr1-L* telah dilakukan pada padi dan menghasilkan tanaman transgenik yang lebih sehat secara morfologis dibandingkan dengan tanaman padi nontransgenik (Sustiprijatno 2006).

Mengacu pada pemenuhan kebutuhan jagung dalam negeri yang masih impor, peluang pengembangan jagung transgenik masih terbuka luas. Dalam kaitan ini, beberapa kendala yang mencakup sumber daya manusia, biaya, dan peralatan serta koordinasi dan kerja sama antarlembaga terkait perlu mendapatkan perhatian untuk dicarikan jalan keluarnya.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agbios GM Data Base. 2007. <http://www.agbios.com/dbase.php?>
- Chan, M.T., T.M. Lee, and H.H. Chang. 1992. Transformation of indica rice (*Oryza sativa* L.) mediated by *Agrobacterium tumefaciens*. *Plant Cell Physiol.* 33:577-583.
- Frame, B.R., H. Shou, R.K. Chikwamba, Z. Zhang, C. Xiang, T.M. Fonger, S.E.K. Pegg, B. Li, D.S. Nettleton, D. Pei, and K. Wang. 2002. *Agrobacterium tumefaciens* mediated transformation of maize embryos using a standard binary vector sistem. *plant physiology*,129(1):13-22.
- Fromm, M.E., L.P. Taylor, and V. Walbot. 1985.Expression of genes transferred into monocot and dicot plant cells by electrophoration. *Proc Natl Acad Sci USA* 882:5824-5828.
- Fuller, G. 1999. Safety assessment of genetically modified corn: a case study. *Regional Symposium on Genetically Modified Foods: Benefits and Awareness.* Bangkok, March 17-18, 1999.
- Gordonn-Kamm, W.J., T.M. Spencer, M.Mangano, T.R. Adams, R.J. Daines, W.G. Start, J.V. O'Brien, S.A. Chambers, W.R. Adams, and N.G. Willetts. 1990. Transformation of maize cells and regeneration of fertile transgenic plants. *Plant Cell* 2: 603-618.
- Gould, J., M. Devery, O. Hasegawa, E.C. Ullan, G. Peterson, and R.H. Smith. 1991. Transfotmation of *Zea mays* L. using *Agrobacterium tumefaciens* and the shoot apex. *Plant Physiol.* 95: 426-434.
- Grimsley, N.H., C. Ramos, T. Heln, and B. Hohn. 1988. Maristematic tissues of maize plants are most susceptible to Agroinfection with maize streak virus. *Bio/Technique* 6: 185-189.

- Hamilton, C.M., A. Frary, C. Lewis, and S.D. Tanksley. 1996. Stable transfer of intact high molecular weight DNA into plant chromosomes. *Proc Natl Acad Sci. USA* 93: 9975-9979.
- Held, G.A., L.A. Bulla, E. Jr. Ferrari, J. Hoch, and A.I. Aronson. 1982. Cloning and localization of the lepidopteran protoxin gene of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 79:60-65.
- Herman, M. 1997. Insect resistant via genetic engineering. *In: A. Darussamin, I.P. Kompiang, and S. Moeljopawiro (Eds.). Proceedings Second Conference on Agricultural Biotechnology. Jakarta, 13-15 June 1995. Current Status of Agricultural Biotechnology in Indonesia, Research and Development and Priorities, Agency for Agricultural Research and Development, Ministry of Agriculture: 217-226.*
- Herman, M. 2002. Perakitan tanaman tahan serangga hama melalui teknik rekayasa genetik. *Buletin AgroBio* 5(1): 1-13.
- Herman, M.1996. Rekayasa genetik untuk perbaikan tanaman. *Buletin AgroBio* 1(1):24-34.
- Hiei, Y., S. Ohta, T. Komari, and T. Kumashiro. 1994. Efficient transformation of rice (*Oryza sativa* L.) mediated by *Agrobacterium* and sequence analysis of the boundaries of the T-DNA. *Plant J.* 6:271-282.
- Ishida, Y., Saito, S. Ohta, Y. Hiei, T. Komari, and T. Kumashito. 1996. High efficiency transformation of maize (*Zea mays* L.) mediated by *Agrobacterium tumefaciens*. *Nature Biotechnol.* 14:745-750.
- Kaepler, H.F., W. Gu, D.A. Sommers, H.W. Rines, and A.F. Cockburn. 1990. Silicon carbide fiber mediated DNA delivery into plant cells. *Plant Cell Rept.* 9:415-418.
- Klein, T.M., M. Fromm, A. Weissinger, D. Tomes, S. Scahaa, M. Sletten, and J. Sanford. 1988. Transformation of maize cells using high velocity microprojectile. *Proc. Natl. Aca. Sci. USA.* 85:4305-4309.
- Komari, T. 1990. Transformation of callus cells of *chenopodium quinoa* by binary vectors that carry a fragment of DNA from the virulence region of pTi Bo542. *Plant Cell Rep* 9: 303-306.
- Komari, T. and T. Kubo. 1999. Methods of genetic transformation: *Agrobacterium tumefaciens*. *In: I.K. Vasil (Ed.). Molecular improvement of cereal crops. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, the Netherlands.* 43-82.
- MacIntosh, S.C., T.B. Stone, S.R. Sims, P. Hunst, J.T. Greenplate, P.G. Marrone, F.J. Perlak, D.A. Fischhoff, and R.L. Fuchs. 1990. Specificity and efficacy of purified *Bacillus thuringiensis* proteins against agronomically important species. *J. Insects Path.* 56:95-105.

- McLean, M.A. and D.J. MacKenzie. 2001. Principles and practice of environmental safety assessment of transgenic plants. Materials presented for Food Safety and Environmental Assessment Workshop. Bogor, April 10-12, 2001.
- Negroto, D., M. Jolley, S. Beer, A.R. Wench, and G. Hansen. 2000. The use of phosphomannose-isomerase as selectable marker to recover transgenic maize plants (*Zea mays*, L.) via *Agrobacterium* transformation. *Plant Cell Rep* 19:798-803.
- Rhodes, C.A., D.A. Pierce, I.J. Mettler, D. Mascarenhas, and J.J. Detmer. 1988. Genetically transformed maize plants from protoplasts. *Science* 240:204-207.
- Smith, R.H. and E.E. Hood. 1995. Review and interpretation: *Agrobacterium tumefaciens* transformation of monocotyledons. *Crop Sci.* 35:301-309.
- Sustiprijatno, M. Sugiura, K. Ogawa, and M. Takahashi. 2006. Improvement of nitrate and nitrite-dependent growth of rice by the introduction of constitutively chloroplastic nitrite transporter. *Plant Biotech.* 23:47-54.
- Syngenta Seeds Communication. 2003. Kernels of gold: the fact of Bt corn. Syngenta Seeds AG, Basel, Switzerland.
- Teng, P. 2001. Who are the beneficiaries of biotechnology aside from multinational companies? *Biotechnology Awareness and Risk Communication Workshop*. Bogor, February 14-15, 2001. ISAB and ISAAA.
- Zhao, Z.Y., W. Gu, T. Cai, L.A. Tagliani, D.A. Hondred, D. Bond, S. Krell, M.L. Rudert, W.B. Bruce, and D.A. Pierce. 1998. Molecular analysis of T<sub>0</sub> plants transformed by *Agrobacterium* and comparison of *Agrobacterium*-mediated transformation with bombardment transformation in maize. *Maize Genet Coor Newslett.* 72: 34-37.